第 41 卷 第 2 期 昆 虫 学 报 Vol. 41, No. 2
1998 年 5 月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA May, 1998

家蚕血液过氧化氢酶活力及其与蚕体抗逆性的关系

吴小锋 徐俊良 崔为正
(浙江农业大学蚕学系 杭州 310029) (山东农业大学蚕学专业 泰安 272018)

摘要 家蚕 *Bombyx mori* (L.) 血液过氧化氢酶 (CAT) 活力随发育时期呈现有规律的动态变化。在幼虫期, CAT 活力以龄初、龄末较高, 而龄中较低; 化蛹后, CAT 活力迅速上升, 至中期达到峰值, 随后迅速下降直至羽化。不同性别间 CAT 活力均以雄性较高; 不同蚕品种间 CAT 活力有很大差异; 饲料对 CAT 活力有一定影响, 人工饲料育蚕 CAT 活力略大于桑叶育的; 高温冲击和氟化物添食都能引起 CAT 活力的显著变化, 但变化的幅度因品种、性别、时期和添食剂量而有所不同。研究认为, 家蚕血液 CAT 活力与其发育变态、体内代谢均具有密切关系, 逆境条件下 CAT 活力变化幅度的大小可以作为家蚕抗逆性强弱的一个重要生理指标。

关键词 家蚕, 过氧化氢酶, 抗逆性

过氧化氢酶 (catalase, 简称 CAT, E. C. 1. 11. 1. 6) 为含铁的氧化酶, 它能迅速分解过氧化氢为水和分子氧。从蚕的生理上看, 它能使蚕在代谢过程中所产生的有毒物质 H_2O_2 分解而解毒[1], 从而维持蚕体正常的生理活动。在家蚕 *Bombyx mori* (L.) 已知的各种酶中, 以过氧化氢酶的催化能力最强。因此, 过氧化氢酶被认为是蚕体最主要的保护酶之一[2]。近年来, 随着对生物保护酶体系在机体防御中重要作用的逐渐认识, 该酶的研究正日益受到重视。

有关家蚕过氧化氢酶的研究, 曾有过一些报道, 认为该酶活力与蚕的经济性状呈正相关[3]; 在氟中毒后, 观察到 CAT 活力显著上升[4]; 还初步探讨了 CAT 活力与蚕抗逆性的关系[5]。但这些研究都是就某一具体问题进行探讨, 相对缺乏系统性, 对 CAT 活力与蚕抗逆性的关系也未提出较明确的结论。因此, 有必要在这些基础上作更系统深入的研究。本文主要从家蚕的保护酶体系的角度出发, 研究其血液 CAT 活力在不同发育时期的变化动态, 探讨影响 CAT 活力的内外因素, 特别是了解在逆境条件下 CAT 活力的变化规律, 观察比较不同强健性蚕品种的差异, 从而阐明 CAT 活力与蚕抗逆性的关系。

1 材料与方法

1.1 供试蚕品种

菁松, 皓月, 菁松×皓月, 秋丰×白玉。

1996-07-08收稿, 1996-12-12收修改稿

1.2 蚕的饲养

人工饲料或桑叶育，常规饲养。4龄或5龄起蚕后，进行雌雄鉴别，分区饲养。

1.3 血淋巴的采集

剪破胸足取血，以10头蚕的混合血淋巴为一测定样品，重复3次。取血后将样品5 000 r/min离心5 min 后，立即进行酶活力测定。

1.4 高温冲击试验

将5龄84 h 蚕放入40℃培养箱内高温冲击1 h 和3 h，随后立即取血测定。以常温(25℃)设置对照。

1.5 氟化物添食试验

5龄起蚕后，分别以30 mg/kg 和60 mg/kg 的 NaF 水溶液连续喷湿桑叶添食。以清水添食作为对照。

1.6 CAT 活性测定

参照 Beers 和 Sizers 的方法[6]。一个 H_2O_2酶单位相当于规定条件下（25℃，pH 7.0）每分钟分解1 μmol H_2O_2所需酶量。测定时，在 H_2O_2底物溶液中加入待测样液100 μL，立即倒入光径1 cm 的比色杯，于240 nm 波长下每隔1 min 测定 A 值一次（于 Beckman Du600分光光度计测定），以下列公式计算酶活性：

$$\text{CAT 活性（U/mL 血液）} = \frac{\Delta A240/\text{min} \times 3}{0.0436 \times E_V} \times T_D$$

（E_V：样液体积；T_D：血液稀释倍数）。

2 结果与分析

2.1 不同发育时期 CAT 活力的变化动态

由图1可见，CAT 活力随着蚕的发育而呈有规律地变化。在幼虫期，无论是4龄还是5龄，CAT 活性均以龄初和龄末较高，而龄中较低（仅5龄120 h 例外），类似于作者报道过的血淋巴超氧物歧化酶（SOD）呈现的“V”形曲线[2]；比较4、5龄 CAT 活性大小，无论是龄初、龄中还是龄末，均以5龄期较高，这和 SOD 活性的变化趋势相反。化蛹后，CAT 活力迅速上升，至中期（48～96 h）其活力达到峰值（486.47 U/mL～496.10 U/mL），随后迅速下降，至羽化时降至最低点（13.76 U/mL）。比较幼虫期和蛹期 CAT 活力变化幅度，幼虫期高低相差2～3倍，而蛹期可达30倍以上。上述结果表明，CAT 活性大小与蚕的发育变态具有密切的关系。

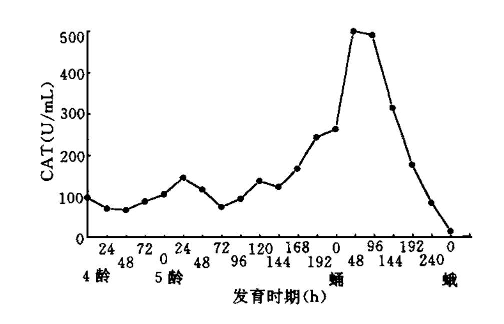


图1　不同发育时期血淋巴 CAT 活力变化动态
品种：菁松×皓月；桑叶育；性别：♀

2.2 CAT 活力在性别间的差异

结果表明（表1），无论是幼虫期还是蛹

期，各发育阶段CAT活力均以雄性较高。但雌雄间差异的幅度随不同发育时期而有变化，如蛹期96 h，♂比♀高仅为2.0%，而蛹期240 h时♂比♀高55.87%。

表1 CAT活力在家蚕性别间的差异（单位：U/mL）

性别	5龄0 h	5龄96 h	5龄192 h	蛹0 h	蛹96 h	蛹240 h
♀	105.96	94.27	240.14	260.09	486.47	82.57
♂	127.98	140.37	253.90	273.85	496.25	128.67

2.3 不同蚕品种间CAT活力差异

本试验选用菁松、皓月两个原种及其一代杂交种菁松×皓月，分别测定5龄前、中、后期CAT活力，分析结果如表2，可见不同品种间CAT活力有很大差异。其中以日系品种皓月较为突出，其CAT活力显著地高于其它品种，且在前、中、后期之间的升降变化较小。其一代杂交种菁松×皓月的CAT活力基本介于2个亲本之间（5龄24 h略有偏离）。比较2个一代杂交种，CAT活力以春用品种菁松×皓月较高，而夏秋品种秋丰×白玉较低，上述结果表明，不同蚕品种间CAT活力有较大差异，而且各自的变化动态也有所不同。

表2 不同蚕品种CAT活力比较（单位：U/mL）

品种	5龄24 h	5龄96 h	5龄144 h
菁松	182.34	74.32	104.25
皓月	212.27	173.74	208.49
菁松×皓月	176.15	117.32	143.47
秋丰×白玉	116.63	63.31	139.34

注：表中数据均为♀、♂平均值；桑叶育

表3 桑叶育和人工饲料育蚕的CAT活力差异（单位：U/mL）

5龄期	桑叶育	人工饲料育
48 h	117.66	128.67
96 h	94.27	103.90
144 h	121.79	124.54

注：品种为菁松×皓月；性别：♀

2.4 不同饲料对CAT活力的影响

由表3可见，人工饲料育蚕CAT活力比桑叶育的蚕高2%～10%，说明不同饲料对CAT有一定的影响。

2.5 高温冲击对CAT活力的影响

由图2可见，高温冲击引起了CAT活力的变化，但其变化规律因品种、性别而有差异：夏秋品种秋丰×白玉在高温冲击1 h后CAT活力比对照略有降低（3.2%），而春用品种菁松×皓月却比对照升高13.7%（其中雄蚕比对照上升了10.6%，略低于雌蚕）。高温冲击3 h后，菁松×皓月不论雌雄，CAT活力均下降，并略低于对照，而秋丰×白玉其CAT活力几乎没有变化。上述结果说明，在高温条件下，秋丰×白玉CAT活力变化幅度比菁松×皓月小。

2.6 氟化物添食对CAT活力的影响

2.6.1 不同浓度氟化物添食对同一蚕品种CAT活力影响：图3为5龄期连续添食氟化物后CAT活力的变化动态，由此可见，氟化物对CAT活力产生了极显著的影响。在添食后48 h内，CAT活力明显下降，30 mg/kg区与60 mg/kg区的变化又有所不同，在添食24 h后，60 mg/kg区CAT活力高于30 mg/kg区，但48 h后却低于30 mg/kg区，表明在24～48 h范围内，60 mg/kg区CAT活力下降幅度更大；48 h后，添食区CAT活力迅速

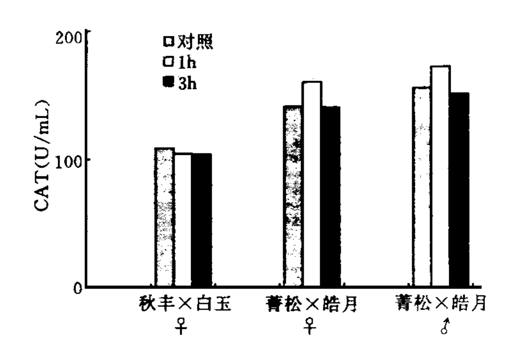


图2　高温冲击对 CAT 活力的影响

冲击时间：5龄84 h

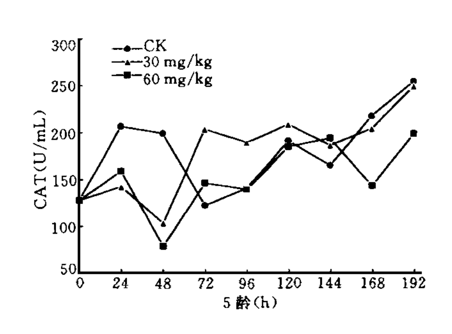


图3　氟化物添食对 CAT 活力的影响

品种：菁松×皓月；性别：♂；桑叶育

上升，并在72 h 时高于对照，尤以30 mg/kg 区更为明显，随后 CAT 活力又有所下降，96 h 后又呈上升趋势，在96～120 h 内，30 mg/kg 区 CAT 活力高于对照，但60 mg/kg 区略低于对照；120 h 后，30 mg/kg 区 CAT 活力变化曲线与对照十分相似，但60 mg/kg 区却出现了相反的情形。在幼虫成熟前，CAT 活力又都呈上升趋势，熟蚕时以对照区活力最高，30 mg/kg 区次之，60 mg/kg区最低。这一结果与养蚕成绩（表4）较为一致。进一步作统计相关分析，发现熟蚕 CAT 活力与全茧量、茧层量、茧层率及健蛹率的相关系数分别达到77.2%、71.5%、77.6%和81.2%，可见熟蚕的 CAT 活力与这些经济性状有较好的相关性。

表4　氟化物添食后 CAT 活力与养蚕成绩

	对照	30 mg/kg	60 mg/kg
熟蚕 CAT 活力（U/mL）	253.90	248.39	198.17
健蛹率（%）	100	88.90	93.33
全茧量（g）	2.095	1.950	1.889
茧层量（g）	0.556	0.470	0.446
茧层率（%）	26.54	24.10	23.63

品种：菁松×皓月；性别：♂

2.6.2　同一浓度氟化物添食对不同抗氟性蚕品种 CAT 活力的影响：对不同抗氟性蚕品种进行同一浓度（60 mg/kg）氟化物添食试验（表5），结果表明，在5龄后期（熟蚕，♀）抗氟性强的夏秋品种秋丰×白玉其60 mg/kg 区 CAT 活力比对照降低了5.5%，而抗氟性较差的春用品种菁松×皓月却比对照降低了37.2%（♂为21.9%）。由此可见，同一浓度氟化物添食后，蚕 CAT 活力下降的幅度因蚕品种而异，较强健的夏秋品种下降的幅度显著地比春用品种小，同一品种雌雄间又以雄蚕下降的幅度较小。

表5　同一浓度氟化物(60 mg/kg)添食对不同抗氟性蚕品种 CAT 活力的影响（单位：U/mL）

蚕品种	秋丰×白玉		菁松×皓月	
	♀	♂	♀	♂
对照区	233.22	241.21	240.14	253.90
添氟区	220.39	236.38	150.81	198.17

3　讨论

本研究表明，家蚕血淋巴的 CAT 活力也象 SOD 那样，随发育时期而呈现有规律的

动态变化。在幼虫每龄前、后期及蛹的中期，CAT 活力较高，而此时（特别是蛹中期）正是体内旧组织溶解与新器官形成最剧烈的时期，体内代谢（特别是蛋白质、氨基酸代谢中的氧化脱氨基作用）产生了较多的 H_2O_2，从而导致CAT 活力的上升。在蛹的后期，由于成虫组织器官已经形成，体内代谢日趋减弱，CAT 活力也逐渐降低。由此可见，家蚕血淋巴 CAT 活力与蚕的发育变态及体内代谢具有密切的关系。

对家蚕而言，高温和氟化物中毒是目前生产上两个比较典型的不良生存环境。本试验进行的高温冲击和氟化物添食试验，旨在探讨逆境条件下家蚕CAT 活力的变化规律，以期探明CAT 活力与蚕抗逆性的关系。结果表明，它们都能引起CAT 活力发生显著的变化。由此认为，家蚕血液CAT 活力的变化可以作为反映蚕的逆境生理的一个重要生化指标。在高温冲击试验中，选用了对高温抵抗力差异大的春用和夏秋用蚕品种进行比较，实验结果表明，对高温抵抗力较强的蚕品种，其CAT 活力变化幅度较小，而抵抗力较弱的菁松×皓月，其CAT 活力有较大幅度的升降。这一结果说明，CAT 活力变化的大小在一定程度上反映了蚕对高温的抵抗能力。氟化物添食试验同样表明，同一蚕品种CAT 活力变化的大小因添食的浓度（即毒害的轻重）而异。尽管在添食初期CAT 活力变化动态各不相同，但5龄后期才能真正反映出氟化物中毒对蚕的影响，而经济性状能较好地反映这种影响的程度，结果表明，5龄后期（熟蚕）CAT 活力与蚕的经济性状表现良好的相关性。同一浓度氟化物对不同抗性蚕品种添食试验进一步表明，蚕CAT 活力的变化因体质强弱、性别而有显著差异，变化幅度的大小反映了蚕抗氟能力的大小，即抗氟能力愈强，变化幅度愈小，反之亦然。综上所述，初步认为，家蚕血淋巴CAT 活力在逆境条件下的变化幅度可以作为衡量蚕体抗逆性强弱的一个重要生理指标。

参 考 文 献

1 吴载德等. 蚕体解剖生理学. 北京：农业出版社，1989. 75～76

2 Wu Xiaofeng *et al*. Studies on the protective enzymes in the silkworm, *Bombyx mori* (L.): Ⅰ. Factors affecting the activity of superoxide dismutase in haemolymph of the silkworm. Intern. Symp. Sericult Sci., Hangzhou, China, Oct. 6～10, 1996

3 黄 孚，俞小华. 桑蚕血液中某些酶与经济性状相关性的测定. 蚕桑通报，1986，17 (2)：24～26

4 陈志伟. 家蚕氟中毒后某些生化变化. 蚕业科学，1987，13 (3)：164～168

5 胡家恕，王毓琴. 桑蚕血液 H_2O_2酶活性的性别差异及其与抗逆性的关系. 蚕桑通报，1991，22 (3)：43～44

6 Beers R F, Sizers I W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J. Biol. Chem., 1952, 195, S. 133

7 袁碧华，葛秀兰. 家蚕肠液蛋白酶和血液 H_2O_2酶活性的品种间差异. 蚕桑茶叶通讯，1988，(2)：12～16

8 Bruno Stellmach. 酶的测定方法（钱嘉渊译）. 中国轻工业出版社，1992，186～194

THE ACTIVITY OF CATALASE IN HAEMOLYMPH OF THE SILKWORM, *BOMBYX MORI* (L.) AND ITS RELATION TO LARVAL RESISTANCE

Wu Xiaofeng　Xu Junliang
(Department of Sericulture, Zhejiang Agricultural University　Hangzhou　310029)
Cui Weizheng
(Division of Sericulture, Shandong Agricultural University　Taian　271018)

Abstract　The catalase (CAT) activity of haemolymph in the silkworm, *Bombyx mori* (L.) exhibited a regular dynamic change through the larva-pupa-moth development. During larval stage, the CAT activity in any instar was higher at early and late stage than at middle stage; after pupation, the CAT activity rised rapidly and reached a peak at 48～96 h, then declined drastically until eclosion. The CAT activity of the male was higher than that of the female. There was great variation of CAT activity among silkworm races. Artificial diet could also affect CAT activity as compared with that fed on mulberry leaves. Both high temperature shock and fluoride solution administration could cause great change in CAT activity and the degree of change varied with silkworm race, sex, stage and administration dose. In view of above, it reveals that the CAT activity is closely related to larval development, metamorphsis, as well as body metabolism, and the change of CAT activity under adverse conditions could be taken as one of the most important physiological index for larval resistance.

Key words　*Bombyx mori* (L.), catalase, resistance